

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Prof. Dr. E. Roots

Papieroelektrophoretische Untersuchungen von Geflügelblutseren

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von Günter Rupp
Tierarzt aus Witzenhausen

Gießen 1957

STANFORD-LANE MEDICAL LIBRARY

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Justus Liebig-Universität zu Giessen
Direktor: Prof. Dr. E. Roots

PAPIERELEKTROPHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN VON
GEFLÜGELBLUTSEREN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades
bei der
Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Giessen

eingereicht von
Günter Rupp
Tierarzt aus Witzenhausen

Giessen 1957

Mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen Fakultät zu Giessen

Dekan: Prof. Dr. R. Wetzel

Berichterstatter: Prof. Dr. E. Roots

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.1957

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Papierelektrophoretische Untersuchungen von Geflügelblutseren.

	<u>Seite:</u>
I. Einleitung	5
II. Schrifttum	7
III. Eigene Untersuchungen	9
A. Untersuchungsplan	9
B. Material und Methoden	10
a. Serumgewinnung	10
b. Elektrophoreseverfahren	11
c. Ermittlung der "R-Werte" von Hühnerblutseren	12
d. Methoden der Flächenbestimmung der Gaußschen Kurven	19
C. Zusammenstellung und Besprechung der Untersuchungsgruppen	20
<u>Gruppe I</u> Junghennen, noch nicht legereif. (3 - 4 Monate alt)	
<u>Gruppe II</u> Legereife Junghennen. (6 - 7 Monate alt)	
<u>Gruppe III</u> Hennen in der Mauser. (1 - 2 Jahre alt)	
<u>Gruppe IV</u> Alte Hennen. (3 - 4 Jahre alt)	
<u>Gruppe V</u> Legereife Junghennen gegen Geflügelpest geimpft. (6 - 7 Monate alt)	
IV. Untersuchungsergebnisse	21
V. Besprechung der Untersuchungsergebnisse	29
VI. Zusammenfassung	34
VII. Schlußwort	36
VIII. Literaturangabe	37
Lebenslauf.	

Einleitung

Das Prinzip, Substanzgemische aufgrund ihrer verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeit in einem elektrischen Feld zu trennen, wurde zum ersten Mal 1907 von Field und Teague angewendet. Es handelt sich dabei um die Trennung von Diphtherietoxin und Antitoxin in einem Agar Gel.

Eine breite Anwendungsmöglichkeit stellte erst die Ausführungsform dar, wie sie von Tiselius 1937 ausgearbeitet wurde und es ermöglichte, Lösungen von Proteingemischen im Nernstchen U-Rohr so mit Puffer zu überschichten, daß die Lage der Trennflächen der einzelnen Proteinabschnitte optisch festgestellt werden konnte. Die Einführung dieser elektrophoretischen Analyse führte zu einer kaum übersehbaren Fülle von Veröffentlichungen über ihre Anwendung und deren Ergebnisse. Die ersten Angaben, Papier als Trägermedium zu verwenden, stammen von König (1937). Er verwendete zusammen mit Klobusitzki (1939) die Elektrophorese auf Papierstreifen, die mit einer Elektrolytlösung getränkt waren, um ein gelbes Pigment von Schlangengift zu isolieren und um Farbgemische zu trennen.

Mit dem Jahre 1950 setzten die Arbeiten ein, die den Wert der Papierelektrophorese für die Trennung makromolekularer Substanzgemische eindeutig nachwiesen. Es waren Veröffentlichungen von P. E. Cremer und Tiselius (1950) Durum (1950) Kraus und Smith (1950) McDonald Urbain und Williamson (1950) Turba und Enenkel (1950) sowie Grassmann und Hannig (1950), größtenteils über die elektrophoretische Analyse von Serumproteinen.

Inzwischen ist das elektrophoretische Verfahren zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel für alle biologischen Wissenschaften geworden. Hat es doch dadurch besonders an Bedeutung gewonnen, daß diese Untersuchungsmethode für das Material äußerst schonend und somit für die oft sehr empfindlichen biologischen Substanzen gut geeignet ist.

Ganz besonders in klinischen Laboratorien hat die Elektrophorese Eingang gefunden, so auch in der Veterinärmedizin. Die verschiedensten Körperflüssigkeiten, wie Urin, Ödemflüssigkeit, Liquor cerebrospinalis, vor allem aber Blutseren werden mit Hilfe des Elektrophoreseverfahren untersucht.

Zweck der vorliegenden Arbeit war es nun, eine große Anzahl von Hühnerblutseren von Tieren der verschiedensten Altersstufen mit Hilfe der Papierelektrophorese in die einzelnen Eiweißfraktionen zu zerlegen, dadurch eine hinreichend große Zahl von Normalwerten zu erhalten, Schwankungen in den Ergebnissen sich entsprechender Fraktionen innerhalb der einzelnen Gruppen zu prüfen und Mittelwerte, errechnet aus den Einzelwerten der verschiedenen Gruppen, mit einander zu vergleichen.

Schrifttum

Elektrophoretische Blutuntersuchungen der verschiedensten Methoden unserer Haustiere, wie sie von Boguth (1953) und anderen Untersuchern durchgeführt wurden, sind sehr zahlreich. Gering ist dabei der Anteil der elektrophoretischen Untersuchungen von Geflügelblutseren.

Deutsch und Goodloe (1945) ermittelten z. B. für Blutplasma von Hühnern bei insgesamt 7 Proben nachstehende Normalwerte:

	z. d. Proben	A	α	$\beta + \gamma$
Männl.	4	38,2% $\pm$ 1,3	23,5% $\pm$ 1,1	37,5% $\pm$ 1,3
Weibl.	3	40,4% $\pm$ 0,6	26,2% $\pm$ 1,1	32,8% $\pm$ 1,2

Von E. Sanders, I. F. Huddleson und P. J. Schaible (1944) wurden bei 3 mit Hilfe der Elektrophorese in freier Lösung untersuchten Geflügelseren folgende Werte gefunden:

Huhn	A	α	β	γ
1	47,4%	9%	14,4%	19,2% Alb/Glob. 1,1
2	41,7%	12,1%	12,8%	32,5% Alb/Glob. 0,7
3	47,8%	16,3%	14,8%	21,1% Alb/Glob. 0,9

Hochedlinger (1953) stellte eine papierelektrophoretische Untersuchung von Geflügelblutseren an. Die Tabelle 1 dieser Arbeit zeigt eine Zusammenstellung der Werte der Serumeiweißkörper von 55 Hühnern, die durch Frischblutagglutination als frei von *Salmonella gallinarum-pulorum* befunden wurden.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen faßt Hochedlinger in folgender Weise zusammen:

"Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß bei den Hühnern beträchtliche Schwankungen der einzelnen Proteinfractionen auftreten, eine Tatsa-

che, die bereits Edsal bei der Elektrophorese in freier Lösung bei allen von ihm untersuchten Tierseren beobachten konnte. Edsal spricht von "Individuellen Schwankungen", die für Tierseren typisch sind. So fand Hochedlinger bei gesunden Hühnern Albuminwerte zwischen 32,1% und 54,3%, Alpha-Globulinwerte zwischen 9,2% und 22,0%, Beta-Globulinwerte zwischen 7,5% und 19,6% und Gamma-Globulinwerte zwischen 20,2% und 36,2%".

Den elektrophoretischen Untersuchungen von Bluteiweißkörpern des Huhnes von Stöckl ist zu entnehmen, daß geringfügige Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren auftreten.

Als physiologische Durchschnittswerte von 4 älteren Hühnern werden dort angegeben:

Zahl d. Prob.	A	α_1	α_2	$\beta + \gamma$
1 Huhn	38,2 $\pm$ 1,3	15,8 $\pm$ 0,6	7,7 $\pm$ 0,5	37,5 $\pm$ 1,3
3 weiße Leghorn	40,4 $\pm$ 0,6	14,9 $\pm$ 1,0	11,3 $\pm$ 0,1	32,8 $\pm$ 1,2

Hieraus geht hervor, daß, abgesehen von den Untersuchungen von Hochedlinger, die Zahl der untersuchten Tiere sehr klein ist und deshalb den gefundenen Ergebnissen nur wenig Bedeutung zugemessen werden kann. Während Deutsch und Goodloe (1945) keine Trennung zwischen der Beta- und Gammafraktion vornehmen, findet man bei E. Sanders, I. F. Huddleson und P. J. Schaible (1944) eigene Werte für die beiden am langsamsten wandernden Globulinfraktionen. Globulinunterfraktionen treten lediglich in den elektrophoretischen Untersuchungen von Stöckl auf.

Eigene Untersuchungen

A. Untersuchungsplan:

Da nach der allgemeinen Erfahrung die relativen Anteile der Eiweißfraktionen nach Alter, Nutzung und unter dem Einfluß verschiedener Krankheiten insbesondere Infektions- und Invasionskrankheiten zu schwanken pflegen, wurde bei der Auswahl der Blutserumspender hierauf geachtet. Durch den vom Veterinärhygienischen und Tierseuchen- Institut der Justus Liebig-Universität ausgeführten Geflügelgesundheitsdienst war der Gesundheitszustand großer Hühnerbestände seit vielen Jahren bekannt. Die verwendeten Hühner stammten aus Beständen, in denen Gallinarum-Salmonellose (Weiße Kükenruhr), Tuberkulose, Kokzidiose und Wurmbefall seit vielen Jahren nicht mehr aufgetreten waren.

Von Domestikationsfolgen erschienen Junghühner vor der Eibildung am ehesten frei zu sein. Die Züchtung auf Eiproduktion mußte sich am deutlichsten bei Junghühnern in der ersten Legeperiode auswirken. Die Ruhepause zwischen zwei Legeperioden, die Mauserzeit, beanspruchte eine erhebliche physiologische Mehrleistung. Die geringere Legeleistung älterer Hühner (3-4 Jahre alt) wirkt sich vermutlich etwas weniger ungünstig auf die Verteilung der Fraktionen aus, als die sehr hohe Legeleistung bei Junghennen in der ersten Legeperiode. Die Immunität trat vermutlich bei künstlich (z.B. gegen atypische Geflügelpest) geimpften Tieren eindeutig hervor.

Zur Ergänzung der berechtigten Vermutung, daß die ausgesuchten Blutspender frei von Krankheiten waren, wurden die Tuberkulinprobe (mit Vogeltuberkulin), die Serumlangsamagglutination zur Feststellung einer Salmonella gallinarum-pullorum Infektion und die Kotuntersuchungen auf Entoparasiten durchgeführt. Das Alter wurde aus den Fußringen abgelesen.

B. Material und Methoden.

Das zur Untersuchung verwendete Blut wurde den Tieren durch Punktion der Flügelvene entnommen und in einer Menge von etwa 3 ccm in einem kleinen Proberöhrchen aufgefangen. Bei der Gewinnung des Serums erwies es sich als vorteilhaft, das Blut mehrere Stunden im Proberöhrchen zu belassen und dann nach Gerinnung und Retraktion des Blutkuchens das Serum abzuhebern und zu zentrifugieren. Dabei wurde besonders darauf geachtet, daß keine Hämolyse eintrat, da durch Hämoglobin verfärbtes Blut erhebliche Fehler bei der elektrophoretischen Untersuchung zur Folge hat. In dieser Hinsicht erwies es sich als ungünstig, das Blut in Zentrifugenröhrchen aufzufangen und sofort zu zentrifugieren. Mit Hilfe einer Kupfersulfatverdünnungsreihe wurde dann der Eiweißprozentgehalt eines jeden Serums schätzungsweise ermittelt. Es erfolgte eine Aufbewahrung im Kühlschrank und eine Untersuchung möglichst am Tage der Gewinnung. Vergleichsbestimmungen mit demselben Serum nach Aufbewahrung bis zu 7 Tagen im Kühlschrank zeigten keine Abweichungen der elektrophoretischen Werte der Hühnseren.

Die Trennung des Serums in seine einzelnen Eiweißfraktionen wurde nach dem Elektrophoreseverfahren von Grassmann und Hannig (1952) mit Hilfe des "Elphor H" Gerätes vorgenommen. Jedes Serum wurde grundsätzlich doppelt bestimmt, aus den Einzelergebnissen ein Mittelwert errechnet. Zur Elektrophorese wurden die Elektrophoresekammern mit einem Veronal-Acetat-Puffer (pH 8,6, Ionenstärke 0,1) gefüllt und in einem Kühlschrank untergebracht, in dem sie auch bei Versuchsunterbrechung gehalten wurden. Vor Versuchsbeginn kamen die Papierstreifen der Fa. Schleicher & Schüll in der oben erwähnten Pufferlösung zu liegen, bis eine maximale capillare Sättigung des Streifens erreicht war, ohne daß überschüssige Pufferlösung an der Oberfläche des Papiers haftete. Zu diesem Zweck wurden bis zu 20 Elek-

trophoresestreifen zugleich in die Pufferlösung getaucht. Nach Herausnahme läßt man die überschüssige Pufferlösung ablaufen und trocknet die Auftragsstelle für das Serum mit Filtrierpapier leicht ab. Sämtliche Streifen müssen dann schnell hintereinander auf die Rahmen der Elektrophoresekammern möglichst straff aufgelegt, in eine feuchte Kammer verbracht und nur zur Beschickung mit Serum noch einmal kurz herausgenommen werden. Das Serum wurde in einer Menge von 0,006 - 0,007 ccm mit Hilfe einer Pipette, die möglichst senkrecht zum Streifen und ohne Druck auf das Papier entlang eines schwach mit Bleistift markierten Striches über eine Breite von 3 cm geführt wurde, aufgetragen.

Bei einer möglichst gleichbleibenden Temperatur und unter Anlegung einer Spannung von 110-120 Volt erstreckte sich der Versuch über 12 - 14 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit werden die feuchten Papierstreifen den Kammern vorsichtig entnommen und unmittelbar danach bei einer Temperatur von 80 - 100°C. getrocknet. Die von Grassmann und Hannig empfohlene Technik der Färbung, Entfärbung und Photometrie kam bei der elektrophoretischen Analyse zur Anwendung.

Die zeitraubende Arbeit, die Extinktionswerte am Galvanometer genau abzulesen, auf einheitliche Werte umzurechnen, um daraus die einzelnen Pherogramme auf Millimeterpapier aufzutragen, konnte dadurch erheblich verkürzt werden, daß bei der Auswertung dieser Versuchsreihen ein Extinktionsschreiber der Fa. Zeiß Anwendung fand. Vergleichsbestimmungen zeigten, daß sich die elektrophoretischen Werte beider Verfahren gleichen, ja, es schien das letztere dadurch geeigneter zu sein, daß die einzelnen Zacken der Globulinunterfraktionen besonders deutlich ausgebildet waren. Diese sind zur Ermittlung der "R-Werte", worauf noch näher eingegangen wird, sehr wichtig.

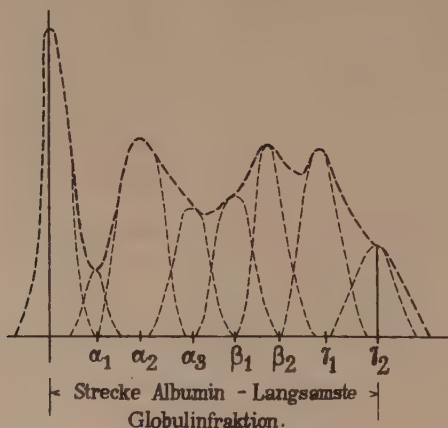
Durch Einzeichnen von Gausschen Kurven erfolgte die Zerlegung der Pherogramme. Bei der Aufteilung der Globulinfraktionen traten Unter-

fraktionen auf, die von anderen Untersuchern nicht angegeben werden.

Ermittlung von "R-Werten" der Hühnerblutseren

Um ein einheitliches System in die Zerlegungsmethode zu bringen, wurde die Entfernung zwischen Fußpunkt der Albuminzacke und den Fußpunkten gut gekennzeichnete Globulinzacken gemessen und in Bezug auf die Strecke Albumin-langsamste Globulinfraktion als "R-Wert" in Prozent berechnet (Boguth 1953). Eingehende Angaben darüber erfolgen von Staub und Rupp in einer getrennten Veröffentlichung.

An nachstehendem schematischen Pherogramm wird die Berechnung veranschaulicht.



Auf diese Weise wurden aus 100 Pherogrammen 5 verschiedener Untersuchungsgruppen, die gut gekennzeichnete Globulinzacken aufwiesen, die "R-Werte" berechnet und aus den Einzelergebnissen das arithmetische Mittel gebildet. Nachstehende 5 Tabellen sollen zeigen, daß unter den Einzelwerten Schwankungen auftreten, die mit 1,4 - 2,6% angegeben werden können.

"R-Werte"

Junghennen noch nicht legereif

Serum Nr.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1
43a	15,38	32,31	47,70	64,62	78,46	90,77
43b	15,25	28,81	44,92	59,32	73,72	88,14
33a	14,47	27,04	42,77	62,26	77,36	89,94
33b	13,93	26,06	41,82	60,00	75,76	89,09
47a	14,94	27,92	43,51	62,91	77,27	90,26
47b	13,94	26,78	40,54	59,49	73,42	86,10
20a	13,91	28,48	45,03	62,91	78,81	90,07
20b	15,65	30,61	45,58	63,94	80,95	91,84
19a	16,22	28,38	44,59	60,81	75,68	89,29
19b	15,65	27,89	48,29	65,31	78,91	90,48
29a	16,55	30,94	46,76	58,27	79,85	91,37
29b	15,22	28,99	46,38	58,70	72,46	90,58
34a	14,84	29,03	45,16	62,58	76,77	89,68
34b	13,89	27,78	41,67	59,72	75,00	87,50
27a	15,32	29,03	45,16	61,29	77,42	90,32
27b	16,95	28,81	45,76	61,86	76,27	88,14
39a	14,65	24,85	42,68	61,78	77,07	89,91
39b	16,05	27,16	45,68	64,20	77,78	88,89
17a	15,22	28,26	42,03	63,22	74,63	87,68
17b	13,83	27,78	41,67	61,11	79,17	91,67
Mittelwert	15,09	28,35	44,38	61,17	76,84	89,58

"R-Werte"

Hennen in der Mauser

Serum Nr.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1
51a	16,67	28,57	46,83	62,70	76,98	89,68
51b	17,54	28,82	48,24	64,91	78,95	90,35
38a	19,63	31,78	46,73	64,49	77,57	88,79
38b	19,23	32,69	46,15	65,38	80,77	91,35
42a	14,60	28,47	45,99	64,23	74,45	87,59
42b	16,18	28,68	45,59	60,29	72,79	88,97
68a	16,39	30,33	44,27	65,57	77,05	88,52
68b	13,71	30,64	46,77	65,32	78,23	87,10
37a	17,24	30,17	43,97	62,07	75,00	87,07
37b	16,67	27,50	44,17	61,67	75,00	86,67
35a	16,81	27,43	44,25	62,83	76,11	89,38
35b	18,49	31,93	44,54	61,34	75,63	89,08
39a	18,46	33,85	48,23	66,15	80,00	90,77
39b	17,04	31,85	48,15	64,44	78,52	89,63
33a	16,18	29,41	48,53	65,44	77,94	87,50
33b	15,11	29,49	45,32	62,59	76,26	88,49
59a	17,43	30,28	45,87	62,39	76,15	89,91
59b	16,07	29,46	45,54	62,50	76,79	88,39
32a	17,65	31,37	45,10	59,80	73,53	86,27
32b	17,86	30,36	42,86	58,04	72,32	85,61
Mittelwert	16,95	30,15	45,86	63,11	76,50	88,61

"R-Werte"
3-4 jährige Hennen

Serum Nr.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1
136a	15,79	32,33	50,38	63,90	78,95	90,98
136b	16,54	33,86	51,90	65,35	77,95	89,76
116a	13,67	27,95	45,34	62,11	74,78	87,58
116b	14,60	28,47	45,60	63,50	77,37	89,78
122a	15,71	29,29	47,14	62,14	76,43	90,00
122b	14,48	28,28	46,70	61,38	76,55	91,72
123a	15,28	29,17	46,53	63,89	77,78	90,28
123b	15,79	30,83	48,87	65,41	78,19	88,72
114a	16,53	29,75	46,28	61,81	77,69	90,08
114b	16,43	29,29	45,00	60,72	77,14	90,71
111a	14,10	28,21	46,16	61,54	75,64	88,46
111b	14,39	30,22	48,92	66,19	79,14	90,64
112a	16,67	29,83	49,12	65,79	78,95	90,35
112b	14,78	28,70	48,70	68,70	80,87	93,04
109a	15,11	30,94	48,21	64,75	78,42	89,93
109b	15,28	27,78	44,44	61,11	75,00	88,89
108a	14,86	29,73	45,95	63,51	78,38	91,22
108b	15,03	28,10	44,44	62,09	77,12	88,89
115a	14,67	29,33	44,67	62,67	76,67	89,33
115b	15,79	27,63	44,74	62,50	77,63	89,47
Mittelwert	15,28	29,48	46,95	63,50	77,58	89,99
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====

Als "R-Werte" für Hühnerblutseren ergaben sich folgende Prozentzahlen:

$$\alpha_1 = 15,54 \pm 1,39 \%$$

$$\alpha_2 = 29,43 \pm 1,76 \%$$

$$\alpha_3 = 45,88 \pm 2,25 \%$$

$$\beta_1 = 62,17 \pm 2,48 \%$$

$$\beta_2 = 76,29 \pm 2,58 \%$$

$$\gamma_1 = 88,97 \pm 1,67 \%$$

Die unter Sigma angegebenen Werte sind die mittleren Fehler der Einzelmessung, errechnet aus der Formel:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (M-E)^2}{n-1}}$$

M = Mittelwert

E = Einzelwert

n = Anzahl der Untersuchungen = 100

Bei der Zerlegung von Hühnerblutseren in die Eiweißfraktionen und deren Bezeichnung wurden die von Boguth (1953) angegebenen Gesichtspunkte berücksichtigt.

- "1. Festlegung stets auftretender Zacken von gut getrennten Fraktionen.
2. Zerlegung der Restfläche unter Berücksichtigung nur fallweise gut ausgebildeter Gipfel und einer restlosen Aufteilung der Fläche durch ein Minimum an Fraktionen.
3. Vergleich mit Werten in der Literatur."

Die gefundenen Fraktionen und ihre Unterfraktionen wurden auf ihre Übereinstimmung bzw. Anlehnung mit den Angaben anderer Untersucher geprüft. Es war hier leider wegen unzureichender Angaben anderer Arbeiten nur beschränkt möglich, eine Zerlegung und Bezeichnung in Anlehnung oder Übereinstimmung vorzunehmen.

Mit Hilfe der "R-Werte" konnten auch die übrigen Pherogramme sämtlicher Gruppen einwandfrei zerlegt werden.

Da bei der Längenausdehnung der einzelnen Pherogramme Schwankungen auftraten und die Zacken der Globulinunterfraktionen nicht immer so deutlich ausgebildet waren, konnte unter Zuhilfenahme einer Schablone, die auf dem Strahlensatz beruht, die Fußpunkte einer jeden Fraktion in den meisten Fällen genau festgelegt werden.

Folgendes Hilfsmittel kam zur Anwendung:

Auf durchsichtigem Millimeterpapier wurden die oben erwähnten "R-Werte" auf einer Strecke von 10 cm als absolute Werte in cm eingetragen und der Endpunkt eines im Winkel von 90° gezeichneten Schenkels mit den einzelnen "R-Wert"-Markierungen verbunden. Zur Flächenbestimmung der Gausschen Kurven sind drei Möglichkeiten gegeben:

1. Das zweimalige Umfahren jeder Fläche mit dem zur "Elphor-H" Apparatur zugefügten Polarplanimeter, Bildung eines Mittelwertes und Errechnung der relativen Prozentgehalte der Eiweißfraktionen.
2. Auswägung der ausgeschnittenen Zacken mit einer Semimikrowaage unter Voraussetzung einer ausreichenden Homogenität des Millimeterpapiers.
3. Berechnung des Flächeninhaltes der Gausschen Verteilungskurven mittels der Formel:

$$I = K \times c \times d$$

Es bedeuten

$$I = \text{Fläche}$$

$$K = \frac{\sqrt{\pi}}{2 \cdot \sqrt{\ln 2}} \quad (\text{Konstante} = 1,064)$$

$$C = \text{Höhe der Gausschen Kurve}$$

$$d = \text{Breite der Gausschen Kurve bei halber Höhe}$$

hergeleitet aus der Formel für die Gaussche Kurve:

$$G = c \times e^{-\frac{h^2}{2d^2} \times x^2}$$

Da die Gipfel und die oberen Teile der Schenkel der Gausschen Kurven besonders gut eingezeichnet sind, erlaubt diese Methode eine ver-

hältnismäßig genaue Berechnung der Flächen.

Die Verfahren 1 und 3 fanden in dieser Arbeit Anwendung, zumal bei Vergleichsberechnungen in den Werten nur geringfügige Unterschiede auftraten.

Zusammenstellung und Besprechung der Untersuchungsgruppen:

Um einen möglichst guten Überblick über die Eiweißzusammensetzung von Geflügelblutseren zu bekommen, wurden Tiere ganz bestimmter Altersstufen für die Untersuchung herangezogen. In der Gruppe I gelangten 16 noch nicht legereife Junghennen im Alter von 3-4 Monaten zur Untersuchung. Der Durchschnittseiweißgehalt der Seren betrug 5,51%. Es handelte sich um Kennfarbige Italiener und New Hampshire. Die Tiere stammten aus einer Herdbuchzucht mit sehr guter Legeleistung. Die Haltung der Hennen erfolgte in Holzstallungen mit freiem Auslauf. Die Fütterung bestand, wie es in Geflügelzuchtbetrieben üblich ist, aus Legemehl und Körnern mit den notwendigen Zusätzen.

In der Gruppe II kamen 18 legereife Junghennen im Alter von 6-7 Monaten zur Untersuchung, es handelte sich hierbei ausschließlich um weiße Leghorn. Der auf Grund der Kupfersulfatverdünnungsreihe ermittelte Eiweißprozentgehalt der Seren betrug 5,61%.

In der Gruppe III wurden 20 1-2 jährige Hennen, die sich in der Mauser befanden, untersucht. Es handelte sich um folgende Rassen: Rebhuhnfarbige Italiener, Weiße Leghorn und Plymouth-Rock. Zur Zeit der Untersuchung wurde eiweißarm gefüttert. Der Durchschnittseiweißgehalt der Sera betrug 5,34%.

In der Gruppe IV wurden 20 3-4 jährige Hennen, der Rassen Weiße Leghorn und Kennfarbige Italiener, für die Untersuchung erfaßt. Ein Durchschnittseiweißgehalt von 5,41% wurde ermittelt.

In der Gruppe V wurden 10 legende Weiße Leghorn-Hennen im Alter von 6-7 Monaten für die Untersuchung herangezogen. Sämtliche Tiere

waren ungefähr 3 Wochen vor der Untersuchung gegen Geflügelpest geimpft worden. Die Auswahl dieser Gruppe wurde deshalb getroffen, um das Bluteiweißbild vaccinierter Tiere zu prüfen und aus der allgemeinen Erfahrung des Anstiegs besonders der Gammaglobuline nach einer Vaccinierung eine Bezeichnung der am langsamsten wandernden Globulinfraktionen vornehmen zu können.

Untersuchungsergebnisse.

In den folgenden Tabellen I - V sind die einzelnen relativen Prozentgehalte der Albumin- und Globulinfraktionen aufgeführt, die nach oben beschriebenen Elektrophoreseverfahren gefunden wurden.

Sämtliche Sera ließen sich einheitlich in

1 Albumin- und 7 Globulinfraktionen zerlegen, die mit
 $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \beta_1, \beta_2, \gamma_1$ und γ_2

bezeichnet wurden.

Nr.	Alb.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1	γ_2	Eiw. %
47a	29,91	2,80	4,91	6,78	13,55	26,40	11,45	4,21	5,8
47b	28,73	3,02	4,91	6,99	12,48	27,98	12,85	3,02	
34a	34,77	3,50	7,41	6,79	12,14	19,55	12,35	3,50	5,6
34b	30,47	3,84	8,58	4,51	16,70	21,90	9,26	4,74	
43a	31,75	4,15	8,61	5,93	10,98	22,50	11,87	4,15	5,4
43b	33,46	4,28	8,55	7,25	8,74	22,68	10,78	4,28	
33a	30,57	4,66	5,18	8,29	13,99	24,61	8,55	4,15	5,4
33b	26,85	4,03	5,37	8,95	12,53	30,20	8,28	3,80	
20a	33,80	3,66	5,63	7,89	15,21	17,75	10,70	5,35	5,9
20b	31,16	7,42	3,56	7,42	16,02	22,26	7,42	4,75	
27a	40,73	3,87	6,31	6,11	11,00	18,94	7,54	5,50	5,6
27b	40,67	3,11	4,44	8,22	11,11	17,11	11,11	4,22	
29a	35,53	3,55	6,60	7,36	14,97	16,24	11,17	4,57	5,2
29b	38,04	2,45	5,71	8,15	14,40	14,13	11,87	6,25	
19a	38,27	2,81	5,87	9,18	11,22	17,35	13,01	2,30	4,8
19b	33,85	4,23	7,35	7,35	10,47	23,39	11,14	2,23	
39a	29,93	4,43	4,21	8,20	15,74	23,73	10,42	3,33	5,6
39b	30,35	3,93	5,02	10,04	15,07	18,78	11,57	5,24	
17a	32,26	2,37	4,30	6,24	15,27	23,44	10,75	5,38	6,0
17b	30,56	2,78	5,00	5,56	19,72	24,17	7,78	4,44	
15a	33,85	4,13	5,68	11,89	8,27	2,77	9,82	2,58	5,4
15b	35,28	4,85	8,19	7,53	8,86	21,91	10,03	3,34	
25a	30,68	4,25	6,47	8,32	12,38	21,44	12,38	4,07	5,2
25b	28,54	4,15	6,34	9,02	10,98	27,07	10,73	3,17	
49a	28,21	3,45	3,76	7,52	10,97	25,08	15,36	5,64	5,6
49b	26,14	4,55	3,98	8,52	10,80	25,85	14,49	5,68	
40a	29,93	2,49	3,74	7,23	19,45	22,19	10,72	4,24	5,6
40b	25,33	3,43	4,49	8,18	19,26	22,96	11,08	5,28	
14a	29,96	4,55	6,40	9,92	12,19	22,52	11,98	2,48	5,3
14b	30,00	4,76	6,43	10,00	10,71	20,71	14,29	3,10	
31a	36,44	4,66	8,05	8,47	15,25	14,83	8,47	3,81	5,8
31b	38,06	4,99	6,56	9,45	13,12	14,96	7,87	4,99	
Mittel- werte	32,32	3,91	5,86	7,91	13,24	21,76	10,82	4,18	5,51

Tabelle II
Legereife Junghennen

Nr.	Alb.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1	γ_2	Eiw. %
77a	32,42	5,49	3,57	8,24	12,09	22,80	12,09	3,30	5,3
77b	36,68	3,91	3,63	5,59	13,41	29,61	8,38	2,79	
91a	21,41	2,45	7,03	9,17	12,23	31,19	10,70	5,81	5,1
91b	19,83	5,03	8,38	11,17	13,13	25,42	12,01	5,03	
80a	26,42	3,46	5,19	7,65	11,36	26,17	14,57	5,19	6,3
80b	27,89	4,49	5,91	8,75	13,48	21,04	14,18	4,26	
96a	25,32	4,91	3,62	7,75	10,59	32,04	11,63	4,13	6,2
96b	24,63	3,98	3,48	9,95	13,43	25,37	14,18	4,98	
79a	20,91	5,77	8,41	11,54	9,68	24,04	13,46	6,25	5,3
79b	22,22	6,25	9,03	8,10	12,04	21,53	15,28	5,56	
90a	21,74	5,80	7,25	6,96	13,62	27,25	12,46	4,93	6,7
90b	24,93	6,30	5,48	9,04	12,33	20,82	15,62	5,48	
100a	23,17	7,92	13,19	9,38	10,26	17,81	10,85	7,33	5,1
100b	22,26	7,93	10,67	11,89	9,15	20,12	11,89	6,10	
81a	19,04	3,35	9,41	7,11	15,69	24,48	14,85	6,07	6,8
81b	18,21	2,68	6,79	9,46	16,61	26,43	13,75	6,07	
71a	28,60	3,97	4,18	6,89	10,44	26,51	14,41	5,01	6,6
71b	24,76	3,30	1,89	6,60	16,27	24,53	15,80	6,84	
98a	27,52	4,59	5,50	9,48	11,93	25,99	8,87	6,12	5,0
98b	27,03	4,59	4,59	9,46	13,51	25,14	11,08	4,59	
92a	25,07	4,90	8,93	14,41	11,53	17,58	11,82	5,76	5,8
92b	23,13	6,22	7,46	16,17	10,45	21,64	10,45	4,48	
99a	19,65	8,82	7,81	9,07	8,31	27,71	12,85	5,79	4,9
99b	19,75	6,17	8,15	10,86	8,64	26,67	14,81	4,94	
87a	16,17	9,58	6,29	11,38	6,89	23,05	20,36	6,29	5,1
87b	19,21	7,89	8,95	7,63	10,00	27,37	12,63	6,32	
73a	18,62	5,06	12,41	9,43	9,43	20,92	17,47	6,67	5,2
73b	21,50	6,90	9,94	9,33	10,14	18,86	17,04	6,29	
69a	20,91	3,53	16,62	10,08	9,57	18,64	13,60	7,05	5,0
69b	20,79	3,93	16,29	9,55	8,43	21,07	12,36	7,58	
93a	20,32	2,37	12,93	9,50	13,46	26,39	11,35	3,69	5,7
93b	17,19	3,98	15,09	9,22	11,11	29,14	10,90	3,35	
82a	16,90	3,76	14,32	9,39	16,43	29,58	6,34	3,29	5,1
82b	17,09	4,39	14,09	10,16	15,47	26,10	8,08	4,62	
84a	19,80	4,68	11,63	8,78	10,82	25,51	12,24	7,14	5,9
84b	18,41	3,14	14,23	8,99	12,13	23,64	13,39	6,07	
Mittel- werte	22,49	5,02	8,68	9,39	11,78	24,51	12,83	5,42	5,61

=====

Tabelle III

Hennen in der Mauser

Fr.	Alb.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1	γ_2	Eiw. %
2a	31,4	7,67	5,58	10,00	12,56	20,00	8,14	4,65	6,0
2b	28,60	7,91	4,65	10,70	11,16	21,86	10,70	4,42	
5a	33,97	2,88	4,17	8,97	16,67	18,59	9,94	4,81	5,4
5b	34,83	4,73	3,73	6,72	11,94	21,89	12,69	3,48	
8a	34,42	5,35	3,02	11,16	11,63	20,23	10,47	3,72	5,6
8b	37,91	4,65	3,72	8,60	14,65	17,44	8,60	4,42	
1a	24,05	5,21	3,61	14,43	11,42	22,44	10,82	8,02	5,2
1b	27,12	5,38	2,90	15,94	11,39	19,46	11,39	6,42	
2a	28,89	3,84	10,71	12,73	10,71	15,96	13,54	3,64	5,7
2b	30,65	5,00	8,91	11,96	7,17	21,09	10,87	4,35	
8a	28,42	5,36	8,04	12,60	13,67	14,75	10,19	6,97	5,8
8b	26,49	3,87	5,95	13,39	12,20	17,56	11,01	9,52	
7a	31,94	5,09	4,17	6,71	15,05	19,68	12,73	4,63	5,1
7b	29,79	4,15	3,11	9,07	13,47	20,47	15,03	4,92	
9a	31,19	8,33	4,52	7,86	14,05	20,95	8,81	4,29	5,1
9b	31,28	7,11	4,27	9,24	14,22	21,33	8,77	3,79	
3a	33,07	3,97	3,70	9,79	12,43	18,78	12,96	5,29	5,1
3b	36,12	2,70	3,77	8,63	12,13	20,22	12,13	4,31	
9a	32,63	5,34	5,15	9,92	10,69	20,23	11,26	4,77	5,0
9b	29,52	4,81	6,18	7,55	13,27	21,05	12,36	5,26	
1a	38,00	7,36	6,41	10,45	7,13	17,81	8,79	4,04	5,1
1b	31,79	7,07	8,42	10,87	9,24	18,21	9,78	4,62	
5a	31,46	2,93	5,12	9,51	9,51	26,59	10,73	4,15	5,1
5b	27,71	3,70	5,08	9,01	12,93	25,64	11,55	4,39	
3a	39,58	5,79	4,63	10,88	6,48	18,98	9,03	4,63	5,1
3b	37,73	7,12	5,28	7,12	9,76	16,09	13,46	3,43	
9a	28,62	4,71	4,21	10,77	3,80	22,90	11,28	3,70	5,4
9b	28,71	4,24	5,18	10,12	10,82	27,53	9,18	4,24	
6a	31,88	5,45	5,45	9,81	12,26	22,34	8,17	4,63	5,1
6b	31,42	4,99	7,39	9,24	10,54	23,29	9,06	4,07	
6a	34,09	4,26	8,77	7,52	9,02	20,80	12,82	3,26	5,5
6b	39,00	4,00	4,50	12,75	8,00	20,25	9,00	2,50	
4a	27,39	3,77	5,53	14,07	12,81	19,85	11,56	5,03	5,5
4b	25,89	6,47	7,93	11,48	12,11	17,74	13,78	4,59	
6a	38,58	4,11	5,71	7,31	12,56	18,49	10,27	2,97	5,5
6b	36,36	4,04	5,45	10,10	11,52	19,39	9,29	3,84	
2a	39,62	4,82	4,61	8,81	10,90	16,56	11,32	3,35	5,0
2b	34,87	5,46	4,83	9,24	10,29	19,12	12,39	3,78	
3a	32,08	3,98	3,76	11,73	10,62	24,12	9,29	4,42	5,5
3b	35,56	3,88	3,88	11,85	12,07	15,95	12,50	4,31	
Mittel- erte	32,32	5,04	5,30	10,22	11,57	20,14	10,88	4,54	5,34

Tabelle IV

Alte Hennen (3-4 Jahre alt)										
Nr.	Alb.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	γ_1	γ_2	Eiw. %	
111a	30,75	7,75	3,10	11,11	11,37	19,38	11,37	5,17	6,2	
111b	33,24	5,88	4,71	10,00	11,76	18,82	11,18	4,41		
115a	28,17	4,57	5,33	6,09	13,96	23,86	13,71	4,31	5,6	
115b	26,58	4,66	4,11	7,39	15,07	24,93	13,42	3,84		
114a	33,57	3,99	3,76	7,04	11,03	23,47	11,74	5,39	4,8	
114b	31,11	3,69	4,15	8,29	12,44	24,42	11,98	3,92		
123a	29,41	6,13	4,66	7,84	13,24	23,77	10,54	4,41	5,6	
123b	31,03	5,52	5,75	8,05	15,17	17,70	11,03	6,21		
122a	28,81	5,15	4,45	10,30	10,77	25,06	11,00	4,45	6,2	
122b	30,88	4,90	5,39	9,80	10,78	24,75	9,80	3,68		
116a	19,57	5,36	5,90	8,58	15,55	27,61	14,75	8,04	5,8	
116b	27,01	3,74	3,45	7,47	13,22	25,86	14,37	4,89		
136a	32,28	5,10	4,37	8,25	14,08	24,03	8,01	3,88	4,8	
136b	35,64	5,90	4,36	7,44	12,31	20,26	11,03	3,08		
112a	36,29	6,23	10,20	9,35	9,35	18,41	10,20	3,97	5,6	
112b	31,76	5,51	10,50	10,50	11,81	17,59	8,66	3,67		
108a	35,91	6,99	4,90	8,86	10,26	20,76	10,03	2,29	4,8	
108b	27,11	7,33	6,22	10,00	14,44	18,89	12,89	3,11		
109a	23,45	5,65	9,60	10,73	10,73	20,06	12,99	6,78	5,4	
109b	26,99	5,93	7,16	9,82	8,18	23,11	11,86	6,95		
129a	32,87	5,75	3,91	7,36	13,79	21,38	10,80	4,14	6,2	
129b	30,61	4,67	4,44	8,41	12,38	25,70	9,58	4,21		
106a	26,70	5,10	5,83	9,47	15,05	23,54	11,41	2,91	5,4	
106b	26,13	4,99	6,89	9,50	16,39	23,04	10,93	2,41		
133a	29,60	4,71	2,69	5,83	13,23	27,13	12,33	4,48	4,8	
133b	27,15	4,07	3,39	7,01	13,35	27,15	13,35	4,52		
128a	23,77	5,51	8,12	9,86	14,49	20,58	11,88	5,80	4,8	
128b	25,00	6,00	9,25	9,50	11,50	21,75	11,25	5,75		
102a	32,38	4,96	4,70	9,66	12,27	23,50	9,39	3,13	5,5	
102b	35,34	3,66	4,19	6,28	12,04	22,77	12,30	3,40		
120a	23,08	3,13	5,53	9,13	13,94	29,33	10,10	5,77	4,8	
120b	21,81	3,68	6,52	9,35	11,90	27,76	11,33	7,65		
130a	25,11	4,26	5,53	8,30	12,77	27,23	12,34	4,47	5,6	
130b	24,29	4,08	4,08	8,98	10,41	27,55	16,33	4,29		
134a	35,15	6,12	8,39	7,03	12,47	18,14	9,52	3,17	5,6	
134b	38,46	5,03	7,99	7,40	11,83	20,71	6,51	2,07		
121a	31,47	4,80	4,80	7,20	13,07	23,20	14,13	1,33	5,6	
121b	31,93	4,82	5,12	7,53	13,25	22,29	12,35	2,71		
131a	20,16	8,22	6,65	11,55	9,39	29,75	9,39	4,89	5,2	
131b	22,70	4,96	7,62	12,06	13,84	23,05	9,93	6,21		
Mittel- werte	29,08	5,21	5,69	8,71	12,56	23,21	11,39	4,39	5,41	

Tabelle V

Legereife Junghennen (gegen Geflügelpest geimpft)

Nr.	Alb.	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	τ_1	τ_2	Eiw. %
9a	22,57	2,91	10,92	10,68	14,08	17,48	13,11	8,25	5,2
9b	22,73	4,01	11,50	9,36	10,69	18,18	13,64	9,89	
18a	20,78	3,46	23,81	6,28	8,01	12,77	15,58	9,31	4,3
18b	20,09	2,77	20,55	8,31	8,31	13,39	18,71	7,85	
14a	23,97	4,55	18,18	11,57	8,26	13,02	15,50	4,96	4,0
14b	23,65	2,70	18,88	11,62	7,68	14,73	13,69	7,05	
24a	29,51	3,95	6,20	13,16	12,97	18,23	8,65	7,33	4,9
24b	30,86	4,21	8,02	10,42	13,22	15,83	10,82	6,61	
20a	26,32	5,26	14,79	10,03	10,03	15,04	10,78	7,77	4,3
20b	25,73	5,15	14,99	11,19	8,72	16,55	10,29	7,38	
12a	21,66	2,30	19,59	9,22	9,45	15,21	15,21	6,68	4,1
12b	19,49	3,81	17,58	10,59	10,38	12,08	19,28	7,38	
28a	26,26	4,04	14,55	8,69	10,71	18,59	10,91	6,26	4,9
28b	25,79	3,38	13,32	7,82	10,15	20,72	13,32	5,49	
17a	25,88	2,51	22,11	7,54	10,05	14,82	8,54	8,54	4,7
17b	23,48	3,72	18,00	11,55	7,44	16,05	13,50	6,26	
11a	28,12	3,40	18,14	7,03	12,24	14,74	8,16	8,16	5,2
11b	27,66	5,22	13,61	10,43	9,52	14,96	12,47	6,12	
26a	25,36	5,54	15,45	9,62	11,08	14,29	10,20	8,45	4,2
26b	22,22	5,32	13,89	12,50	9,95	12,73	12,73	10,65	
Mittel- werte	24,61	3,91	15,67	9,88	10,15	15,47	12,75	7,49	4,58

=====

Aus diesen Einzelwerten wurde das arithmetische Mittel gebildet und in einer Mittelwertsberechnung Sigma, die Streuung oder der mittlere Fehler der einzelnen Messungen berechnet nach der Formel

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (M-E)^2}{n-1}}$$

M = Mittelwert

E = Einzelwert

n = Anzahl der Untersuchungen

Daran schloß sich die Errechnung des mittleren Fehlers des Mittelwertes μ an, nach der Formel

$$\mu = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

In der Tabelle VI sind die mittleren relativen Prozentzahlen der Eiweißfraktionen aller fünf Gruppen mit deren mittleren Fehlern der einzelnen Messung (σ) und der mittleren Fehler der Mittelwerte (μ) zusammengefaßt. Der Durchschnittseiweißgehalt einer jeden Serumgruppe ist hinzugefügt.

noch nicht legereif

Legereife

Junghennen

Hennen in der

Mauser

Alte Hennen

Legereife Junghennen gegen

Geflügelpest geimpft

	24,61	3,91	15,67	9,88	10,15	15,47	12,75	7,49
σ	3,01	1,01	4,48	1,85	1,87	2,29	3,09	1,44
μ	0,67	0,23	1,00	0,41	0,42	0,51	0,69	0,32
Gesamteiweiß = 4,58 %								

Besprechung der Untersuchungsergebnisse.

Um die Mittelwerte einer jeden Fraktion untereinander vergleichen zu können, war es erforderlich, den Unterschied zweier zu vergleichender Werte mit Hilfe eines t-Testes auf seine statistische Sicherheit zu prüfen.

Wenn z.B. in der Albuminfraktion der Gruppe II (legereife Junghennen) ein relativer Prozentgehalt von 22,49 und in der Gruppe V (gegen Geflügelpest geimpfte legereife Junghennen) ein relativer Prozentgehalt von 24,61 gefunden wurde, so geht daraus noch nicht hervor, daß dieser Unterschied signifikant ist. An diesem einen Beispiel soll gezeigt werden, daß, obwohl man hier einen Unterschied annehmen möchte, dieser jedoch aufgrund des durchgeführten t-Testes ausgeschlossen werden kann. Nach E. Mittenecker (1952) gestaltet sich die Untersuchung zweier Mittelwerte auf ihren statistisch gesicherten Unterschied folgendermaßen.

Hier in diesem Fall:

Relativer Prozentgehalt der Albuminfraktion

$$\text{Gruppe II} = 22,49 \pm 0,75$$

In der Gruppe II führten 36 Messungen zu diesem Ergebnis. Die Zahl der Untersuchungen wird mit

n_1 bezeichnet.

Relativer Prozentgehalt der Albuminfraktion

$$\text{Gruppe V} = 24,61 \pm 0,67$$

In der Gruppe V führten 20 Untersuchungen zu diesem Ergebnis. Die Zahl der Untersuchungen wird mit

n_2 bezeichnet.

$$\text{Dann ist } t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\mu_1^2 + \mu_2^2}}$$

M_1 = Mittelwert der Albuminfraktion der Gruppe

$$\text{II} = 22,49$$

M_2 = Mittelwert der Albuminfraktion der Gruppe

$$\text{V} = 24,61$$

μ_1 = Mittlerer Fehler des Mittelwertes der
Gruppe II = $\pm 0,75$

μ_2 = Mittlerer Fehler des Mittelwertes der
Gruppe V = $\pm 0,67$

Für t wird ein Wert von 2,038 errechnet.

Für die Signifikanz eines Unterschiedes zweier Mittelwerte müßte der für t errechnete Wert eine Zahl der t-Tabelle, Tafel IV (Planung und statistische Auswertung von Experimenten von E. Mittenecker) abgelesen nach den Freiheitsgraden

$$\frac{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)}{2}$$

und einer Wahrscheinlichkeit von 5% bei biologischen Messungen erreichen oder gar übersteigen. Bei 36 Messungen in der Gruppe II und 20 Messungen in der Gruppe V handelt es sich um 27 Freiheitsgrade ($35 + 19$), was bei einer 5%igen Wahrscheinlichkeit einen Wert von $2,052^2$ in der t-Tabelle ausmacht. Daraus geht hervor, daß zwischen dem Mittelwert der Gruppe II und dem Mittelwert der Gruppe V kein statistisch gesicherter Unterschied besteht, da die Zahl der t-Tabelle größer ist als der für t ermittelte Wert.

Bei fünf Untersuchungsgruppen und acht verschiedenen Eiweißfraktionen sind achtzig Vergleichsmöglichkeiten gegeben, die in der Tabelle VII zusammengestellt sind. Aufgrund der Vergleichsuntersuchung je zweier Mittelwerte sich entsprechender Fraktionen können von vornherein 25 Möglichkeiten (in der Tabelle VII mit einem negativen Zeichen versehen) für die Diskussion unberücksichtigt bleiben.

Geht man nun bei der Besprechung der Ergebnisse in den einzelnen Fraktionen vor, so stellt man im Albumingehalt der Seren von noch nicht legereifen Junghennen, von Hennen in der Mauser und von alten Hennen eine gewisse Übereinstimmung fest, während die Werte bei le-

Tabelle VII

Unterschied								
Mittelwert:								
Mittelwert.	A	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	τ_1	τ_2
I : II	+	+	+	+	+	+	+	+
I : III	-	+	-	+	+	+	-	+
I : IV	+	+	-	+	-	+	-	-
I : V	+	-	+	+	+	+	+	+
II : III	+	-	+	-	-	+	+	-
II : IV	+	-	+	-	-	-	+	+
II : V	-	+	+	-	+	+	-	+
III : IV	+	-	-	+	+	+	-	+
III : V	+	+	+	-	-	+	+	+
IV : V	+	+	+	+	+	+	-	+

Tafel IV

t-Tabelle.

df	Wahrscheinlichkeit				
	50%	10%	5%	2%	1%
1	1,000	6,314	12,706	31,821	63,657
2	0,816	2,920	4,303	6,965	9,925
3	0,765	2,353	3,182	4,541	5,841
4	0,741	2,132	2,776	3,747	4,604
5	0,727	2,015	2,571	3,365	4,032
6	0,718	1,943	2,447	3,143	3,707
7	0,711	1,895	2,365	2,998	3,499
8	0,706	1,860	2,306	2,896	3,355
9	0,703	1,833	2,262	2,821	3,250
10	0,700	1,812	2,228	2,764	3,169
11	0,697	1,796	2,201	2,718	3,106
12	0,695	1,782	2,179	2,681	3,055
13	0,694	1,771	2,160	2,650	3,012
14	0,692	1,761	2,145	2,624	2,977
15	0,691	1,753	2,131	2,602	2,947
16	0,690	1,746	2,120	2,583	2,921
17	0,689	1,740	2,110	2,567	2,898
18	0,688	1,734	2,101	2,552	2,878
19	0,688	1,729	2,093	2,539	2,861
20	0,687	1,725	2,086	2,528	2,845
21	0,686	1,721	2,080	2,518	2,831
22	0,686	1,717	2,074	2,508	2,819
23	0,685	1,714	2,069	2,500	2,807
24	0,685	1,711	2,064	2,492	2,797
25	0,684	1,708	2,060	2,485	2,787
26	0,684	1,706	2,056	2,479	2,779
27	0,684	1,703	2,052	2,473	2,771
28	0,683	1,701	2,048	2,467	2,763
29	0,683	1,699	2,045	2,462	2,756
30	0,683	1,697	2,042	2,457	2,750
32			2,037		2,739
34			2,032		2,728
36			2,027		2,718
38			2,025		2,711
40			2,021		2,704
45			2,013		2,688
50			2,008		2,678
55			2,005		2,668
60			2,000		2,660
70			1,994		2,648
80			1,990		2,638
100			1,984		2,626
∞	0,674	1,645	1,960	2,326	2,576

gereifen und legereifen vaccinierten Tieren mit 22,49 bzw. 24,61 % um ein beträchtliches von erstgenannten abweichen.

In der α_1 Fraktion kann eine Diskussion unterbleiben, da nur geringfügige Schwankungen zwischen 3,91 und 5,21 % auftreten. In der Fraktion α_2 läßt sich ebenfalls wie in Fraktion A eine Übereinstimmung der Werte der Gruppen I, III und IV erkennen, während in Gruppe II eine unerhebliche Zunahme, in Gruppe V ein beträchtlicher Anstieg auf 15,67 % festzustellen ist.

Fraktion α_3 und β_1 entbehren einer Besprechung, da weitestgehende Übereinstimmung in den Werten entsprechender Fraktionen herrscht.

Fraktion β_2 zeigt wieder ein unterschiedliches Bild.

Annähernde Werte in den Gruppen I, III und IV, geringe Abweichung in Gruppe II nach oben (24,51) und ein Absinken in Gruppe V auf 15,47%.

Wenn auch die beiden letzten Fraktionen γ_1 und γ_2 nur kleinere Schwankungen aufweisen, so bedürfen diese doch einer Besprechung. In der ersteren ist auch wieder eine gewisse Übereinstimmung in den Prozentzahlen der Gruppen I, III und IV, desgleichen in II und V ersichtlich.

In der am langsamsten wandernden Globulinfraktion ist lediglich in Gruppe V, (legereife Junghennen, 3 Wochen vor der Untersuchung gegen Geflügelpest geimpft), ein charakteristisches Ansteigen auf 7,49% zu erkennen.

Da in dieser Arbeit festzustellen war, ob in der Eiweißzusammensetzung der Hühnerblutseren der verschiedensten Altersstufen charakteristische Unterschiede auftreten, lassen sich an dieser Stelle folgende Merkmale hervorheben:

Die Seren der Gruppen noch nicht legereife Junghennen, in der Mauser befindliche Hennen und alte Hennen, weisen im wesentlichen übereinstimmende Werte in den einzelnen Eiweißfraktionen auf und können

in einer Gruppe 1 zusammengefaßt werden.

Die Sera legereifer Junghennen stellen die Gruppe 2 dar. Sie ist gekennzeichnet durch eine erhebliche Abnahme des Albuminprozentgehalts (vermutlich bedingt durch eine Mehrbeanspruchung infolge der Legetätigkeit) und einen geringfügigen Anstieg der α_2 und β_2 Globuline.

In der Gruppe 3 (legereife Junghennen, 3 Wochen vor der Untersuchung gegen Geflügelpest geimpft) tritt ebenfalls der niedrige Albuminprozentgehalt deutlich hervor. Außerdem weichen die α_2 Globuline durch eine bedeutende und die γ_2 Globuline durch eine leichte Zunahme von erstgenannten Gruppen ab.

Zusammenfassung

Es werden die theoretischen Grundlagen der Elektrophorese, im besonderen die der Papierelektrophorese, ferner die Methode der Papierelektrophorese von Grassmann und Hannig (1950), die für meine Untersuchungen herangezogen wurde, beschrieben.

Das Serum 84 klinisch gesunder Hühner der verschiedensten Rassen und Altersstufen (noch nicht legereife Junghennen (3-4 Monate alt), legereife Junghennen (6-7 Monate alt) Hennen in der Mauser (1-2 Jahre alt) alte Hennen (3-4 Jahre alt) und legereife Junghennen (6-7 Monate alt, 3 Wochen vor der Untersuchung gegen Geflügelpest geimpft) elektrophoretisch analysiert. Unter Berücksichtigung der von Boguth entwickelten Methode der Ermittlung von "R-Werten" wurden für Hühnerseren folgende Werte gefunden:

$$\alpha_1 = 15,54 \pm 1,39 \%$$

$$\alpha_2 = 29,43 \pm 1,76 \%$$

$$\alpha_3 = 45,88 \pm 2,25 \%$$

$$\beta_1 = 62,17 \pm 2,46 \%$$

$$\beta_2 = 76,29 \pm 2,58 \%$$

$$\gamma_1 = 88,97 \pm 1,67 \%$$

Sämtliche Sera ließen sich einheitlich in 1 Albumin und 7 Globulinfraktionen zerlegen, die mit α_1 , α_2 , α_3 , β_1 , β_2 , γ_1 und γ_2 bezeichnet wurden.

Aus den Einzelergebnissen der fünf Untersuchungsgruppen wurden Mittelwerte errechnet und in einer Mittelwertsbestimmung die mittleren Fehler der Einzelmessung (σ) und die mittleren Fehler der Mittelwerte (μ) bestimmt. Mit Hilfe eines t-Testes konnten die zu vergleichenden Mittelwerte innerhalb einer jeden Fraktion auf ihren statistisch gesicherten Unterschied geprüft werden.

Aufgrund der elektrophoretischen Untersuchungen wird festgestellt, daß in der Eiweißzusammensetzung von Hühnerblutseren der verschiedensten Altersstufen charakteristische Unterschiede auftreten.

Die Ergebnisse der 5 Untersuchungsgruppen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1.) Die Gruppe noch nicht legereifer Junghennen, der Hennen in der Mauser und der alten Hennen wiesen nahezu einheitliche Werte in den Eiweißfraktionen auf.

2.) Die Gruppe der legereifen Junghennen unterschied sich von den oben angeführten Gruppen hauptsächlich durch einen erheblichen Abfall des Albumin- und geringfügigen Anstieg des α_2 - und β_2 -Globulinprozentgehaltes.

3.) Die Gruppe der legereifen Junghennen, die 3 Wochen vor der Untersuchung gegen die Geflügelpest geimpft worden waren, stellt durch ihren niedrigen Albuminprozentgehalt, die auffallend große Zunahme der α_2 -Globuline, den erheblichen Abfall der β_2 -Globuline und der leichten Zunahme der γ_2 -Globuline eine besonders interessante Untersuchungsgruppe dar.

Am Schluß meiner Arbeit ist es mir ein herzliches Bedürfnis, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen Herrn Prof. Dr. Roots für die Überlassung des Themas und die jederzeitige Unterstützung, die er mir gewährte, Herrn Prof. Dr. Boguth für die mir zuteilgewordene Förderung, die ich jederzeit bei ihm fand, sowie den Angehörigen des Institutes, insbesondere Herrn Privatdozent Dr. Geißler und Herrn Dr. Staub für die mir entgegengebrachte verständnisvolle Hilfsbereitschaft.

1. Boguth, W. Papierelektrophoretische Serumunter-
suchungen bei Haussäugetieren.
Zbl. Vet. Med. 1, 169, (1953)
2. Cremer, H.-D. und Tiselius, A.
Elektrophorese von Eiweiß in
Filtrierpapier.
Biochem. Z. 320, 273, (1950)
3. Deutsch, H.F. und Goodloe, M.B.
J. Biol. Chem. 161, 1, (1945)
4. Durrum, E. L. A. Mikroelectrophoretic and
Mikroionophoretic Technique.
J. Amer. Chem. Soc. 72, 2943, (1950)
5. Field, W. C. and Teague, O.
On the Electrical Charge of the
Native Proteins and Agglutinins.
J. Exper. Med. 9, 222, (1907)
6. Grassmann, W. und Hannig, K.
Ein quantitatives Verfahren zur Ana-
lyse der Serumproteine durch Papier-
elektrophorese.
Dtsch. med. Wschr. 77, 1168, (1952)
7. Grassmann, W. und Hannig, K.
Ein einfaches Verfahren zur Analyse
der Serumproteine und anderer Pro-
teingemische.
Naturwissenschaften 37, 496, (1950)
8. Hermann, G. und Oberhausen, E.
Zur Auswertung von Papierelektro-
phoresen.
Naturwissenschaften 40, 412, (1953)
9. Hochedlinger, R. Über die Papierelektrophoretische
Untersuchung von normalem Hühnerserum.
Diss. Wien (1953)
10. Klobusitzki, D. v. und König, P.
Biochemische Studien über die Gifte
der Schlangengattung Bothrops.
Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 192, 271, (1939)
11. König, P. Actas III Congr. Sud. Americ. Chimica 2, 334, (1937)

12. Kraus, K.A. und Smith, G.W.
Electromigration on Filter Paper.
J. Amer. Chem. Soc. 72, 4329, (1950)
13. McDonald, H.J., Urbin, M.C. and Williamson, M.B.
Measurement of Ion Migration on
Paper in an Electric Field. Trans-
ference Numbers of Nickel and Copper
Sulfates.
Science 112, 227, (1950)
14. Mittenecker, E.
Planung und statistische Auswertung
von Experimenten.
Verlag Franz Deuticke, Wien (1952)
15. Sanders, E. Huddleson, I.F. und Schaible, P.J.
Eine elektrophoretische Untersuchung von
Serum und Plasma aus normalen und mit
Leukose behafteten Kühen.
J. Biol. Chem. 155, 469, (1944)
16. Stöckl, W.
Elektrophoretische Serumuntersuchung
bei Haustieren unter normalen Bedingun-
gen und nach Antigenezufuhr
(Mit einem Beitrag über die Wirkungsweise
von Adsorbatvaccinen)
Wien. tierärztl. Mschr. 43, 150, (1956)
17. Tiselius, A.
A new Apparatus for Electrophoretic
Analysis of Colloidal Mixtures.
Trans. Faraday Soc. 33, 524, (1937)
18. Turba, F. und Enenkel, H.J.
Elektrophorese von Proteinen in
Filtrierpapier.
Naturwissenschaften 37, 93, (1950)

L e b e n s l a u f

Am 22.6.1931 wurde ich als Sohn des Betriebsleiters Rudolf Rupp und seiner Ehefrau Julie, geb. Haug, in Witzenhausen an der Werra geboren.

Die Grundschule besuchte ich von 1938 bis 1942 in Witzenhausen und anschließend daran die Oberschule für Jungen in Heiligenstadt. 1945 war ein weiterer Schulbesuch in Heiligenstadt nicht mehr möglich. Ich setzte meine Ausbildung an der Oberschule in Hann.Münden fort, wo ich 1951 die Reifeprüfung ablegte. Die Zeit bis zur Zulassung zum Studium an der Justus-Liebig Universität Giessen 1952 verbrachte ich als Praktikant in der Landwirtschaft in Bayern und als Hilfsarbeiter in der Möbelindustrie in Witzenhausen.

Im April 1954 legte ich an der Justus-Liebig Universität die Tierärztliche Vorprüfung, im Januar 1957 die Tierärztliche Vorprüfung ab. Zur Zeit bin ich als Veterinärpraktikant bei Herrn Dr. Wagner in Lauterbach/Hessen tätig.

